Ursprung, H., und Hadorn, E., 1961. *Xanthindehydrogenase in Organen von Drosophila melanogaster.* Experientia 17: 230.

Vogt, M., 1943. *Zur Produktion und Bedeutung metamorphosefördernder Hormone während der Larvenentwicklung von Drosophila.* Biol. Zentralblatt 63: 395-446.

---

## N° 30. G. de Haller, Genève. — Altération expérimentale de la stomatogenèse chez *Paramecium aurelia*. (Avec 1 figure dans le texte et 1 planche.)[1]

Institut de Zoologie de l'Université, Genève.

### Introduction

La notion de l'autonomie génétique des organelles corticales chez les Ciliés (Chatton, Lwoff, Lwoff et Monod 1931a) s'est vue renforcée par l'hypothèse que le centrosome, d'ultrastructure identique à celle des corpuscules infraciliaires, ou cinétosomes, se multiplie de manière autonome. L'idée que non seulement les cinétosomes, mais toutes les composantes du cortex (trichocystes, pores des vacuoles pulsatiles, cytoprocte, pharynx) se multiplient par autoreproduction, acquiert de plus de plus de créance. De nombreux auteurs pensent que la morphogenèse même de la cellule est dirigée chez les Ciliés par les structures morphologiques préexistantes et non par l'information génétique du noyau. Le cas des « doublets » chez *P. aurelia*, cité par Sonneborn et Dippell (1960, 1961, 1962) à l'appui de cette théorie, en est un exemple.

Des recherches récentes ont montré que chez *P. bursaria*, les trichocystes ne se reproduisent pas par division, mais par formation *de novo* sans relation avec les éléments similaires préexistants. Il en est probablement de même des cinétosomes (Ehret et Powers 1959, Ehret et de Haller 1961, 1963). La comparaison des cinétosomes avec le centrosome doit d'ailleurs être faite avec circonspection, car on ne trouve jamais de jeune cinétosome placé à angle

---

[1] Travail effectué grâce à une bourse de l'Académie Suisse des Sciences médicales.

Contribution nb 750 from the Zoological Laboratory, Indiana University, U.S.A. The work of the author was supported in part by the Atomic Energy Commission (U.S.A.) contract nb AT (11-1)-235-11 to T.M. Sonneborn.

droit d'un ancien, disposition bien connue pour les centrosomes (Gall 1961).

La controverse porte également sur les structures pharyngiennes. La stomatogenèse, lors de la division cellulaire et après la conjugaison et l'autogamie, se fait à partir du champ anarchique, situé sur la paroi vestibulaire droite de l'ancien pharynx. Le champ anarchique est un amas de cinétosomes nouveaux. La proximité immédiate de l'ancien pharynx d'une part, d'autre part la nécessité de sa présence (chez Paramecium) pour que la nouvelle stomatogenèse ait lieu, semblent parler en faveur de l'autonomie génétique du pharynx (Chatton, Lwoff, Lwoff et Monod 1931b). La notion de formation de novo des organelles corticales (Ehret et de Haller 1963) s'y oppose au contraire.

La preuve que l'information qui détermine la morphogenèse des structures corticales provient soit du cortex préexistant, soit au contraire du génome chromosomien, ne peut être fournie que par la génétique. *P. aurelia* est un matériel particulièrement favorable pour une telle étude, puisque l'autogamie, grâce à la réorganisation nucléaire, permet de discerner l'origine cytoplasmique ou génique d'une caractéristique donnée. L'objet du présent travail est d'apporter une contribution dans ce sens, en ce qui concerne la morphogenèse du pharynx.

## Matériel et méthode

L'expérience a été faite sur *Paramecium aurelia*, syngène 4, stock 51-d4 du laboratoire du professeur Sonneborn, cultivé en infusion de cérophylle avec Aérobacter aérogenes.

Production de mutants par la méthode de Kimball (1949). Le schéma présenté ici (p. 595) en donne un aperçu. Irradiation aux rayons UV, de 2000 ergs/mm$^2$, au moyen d'une lampe germicide. Pendant et après l'irradiation, les cellules étaient maintenues à l'obscurité, afin d'éviter la photoréactivation. 3 heures après, elles étaient isolées. Les cellules qui survivaient à l'irradiation subissaient 10 divisions végétatives, puis dans chacune des lignées ainsi produites, l'autogamie était provoquée par épuisement du milieu. Contrôle de l'autogamie sur un échantillon de chaque lignée par coloration instantanée au carmin acétique — fast green selon Dippel (1955). Les lignées où des anomalies morphologiques appa-

rurent après l'autogamie furent fixées et imprégnées à l'argent d'après la méthode « humide » de Chatton et Lwoff (1930), modifiée selon des conseils oraux du Dr Ruth Dippel.

## Résultat

La série étudiée ici fut de 50 cellules irradiées et de 50 témoins.

*Effet direct de l'irradiation :*

| | | | |
|---|---|---|---|
| Cellules irradiées: | 50 | Tuées: 22 | Survivantes: 28 |
| Témoins non irradiés: | 50 | » 0 | » 50 |

La survie des irradiées fut de 56%, soit 28 cellules qui se multiplièrent normalement (après un temps de latence variable), sans aucune altération morphologique. Ces lignées furent amenées à l'autogamie.

*Effet de l'autogamie sur les lignées des cellules irradiées survivantes :*

| Groupe | Nombre de lignées | % (des surviv.) | % (des irrad.) | Effet observé |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 12 | 43 | 24 | Aucun. |
| 2 | 6 | 21,5 | 12 | Mutations diverses, sans effet morphologique discernable. |
| 3 | 8 | 28,5 | 16 | Diversité dans la dimension des cellules (cause indéterminée). |
| 4 | 2 | 7 | 4 | Diversité de la dimension des cellules, due à l'atrophie du pharynx |

Les groupes 3 et 4 se caractérisent par l'apparition, après l'autogamie, de deux sortes de cellules: les unes, en général en très petit nombre, ont un aspect et un comportement normaux. Les autres sont de dimensions réduites, semblables à des cellules en inanition. En outre, une certaine proportion de cellules périssent lors de l'autogamie. La proportion de cellules normales et de cellules petites n'a pas pu être déterminée, les normales se mettant immédiatement à se multiplier.

| Evènements. | mi-nucl. | Ma-nucl. | Cortex. |
|---|---|---|---|
| Clone. | 2-n | poly-n | |
| Irradiation. UV ........ erg/mm² | | | |
| Isolement. Survie. | ? ? | | |
| Multiplication végétative. | | | |
| Autogamie. | Méiose. 2° division. 3° division. Fusion. Div. du zygote. | | Résorption du pharynx. Stomatogenèse. |
| Apparition des mutations. | | | |

SCHÉMA.

Obtention de mutants homozygotes chez Paramecium aurelia

Pour les 8 lignées du groupe 3, la carence des cellules petites résidait probablement dans une insuffisance métabolique. Elles étaient morphologiquement normales. Dans les 2 lignées du groupe 4, l'imprégnation argentique révéla chez toutes les cellules petites une atrophie du pharynx. Rappelons que pendant l'autogamie, comme lors de la conjugaison, le pharynx disparaît et qu'un nouveau pharynx est formé immédiatement après. C'est cette nouvelle stomatogenèse qui est altérée dans les deux cas décrits.

*Description de l'anomalie morphologique (Pl. I):*

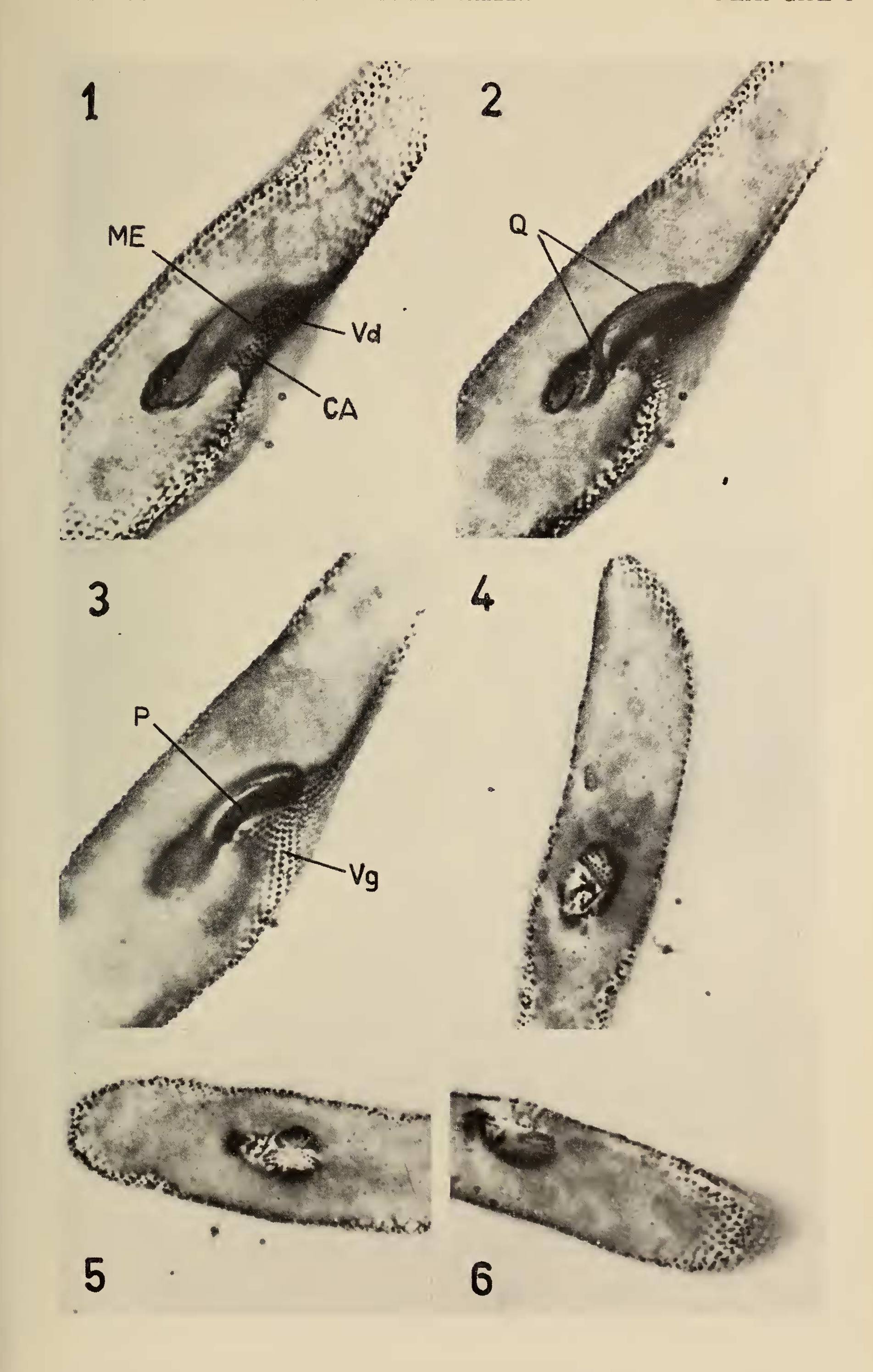
Le pharynx normal est séparé du vestibule sur son côté droit par la membrane endorale (fig. 1). Le fond, ou paroi dorsale, du pharynx porte le quadrulus, formé de quatre lignes de cils (fig. 2). La paroi gauche est tapissée par les deux penniculi, de même composition que le quadrulus, mais plus serrée (fig. 3). Le quadrulus s'enfonce en spirale dans la profondeur du pharynx jusqu'à la région formatrice des vacuoles digestives. L'ensemble du pharynx normal a la forme d'un entonnoir incurvé vers l'arrière.

Les fig. 4-6 représentent 3 exemples de cellules à pharynx atrophié. Elles montrent l'absence de certaines structures et la désorganisation de celles qui subsistent. La membrane endorale est absente; on reconnaît des fragments désorientés de quadrulus ou ce qui peut être interprété comme des penniculi rudimentaires, à structure lâche. Le pharynx est constitué d'une simple cupule creusée à la surface de la cellule, sans ouverture vers l'intérieur. Il est à remarquer que l'anomalie est très uniforme et atteint dans les deux lignées la presque totalité des individus.

## Discussion

Cette anomalie morphologique du pharynx est forcément léthale, les cellules étant incapables de se nourrir. Une étude génétique ultérieure en est donc impossible. Cependant les données de l'autogamie sont suffisamment précises pour que des conclusions utiles puissent être tirées avec certitude des résultats observés.

Après l'irradiation, le cytoplasme et l'ensemble des structures corticales des cellules survivantes se sont montrés normaux pendant au moins dix générations végétatives. Le volume cytoplasmique


1
2
3
4
5
6
ME
Vd
CA
Q
P
Vg

et la surface cellulaire ont augmenté dans chaque lignée dans une proportion de 1 à plus de 1000. (1024 si les divisions ont été régulières: $1 \times 2^{10-1}$). 1023 nouveaux pharynx normaux ont été formés. Cette multiplication végétative s'est faite sous le « règne » de l'ancien macro-nucleus, qui ainsi s'est également révélé normal, ou tout au moins totipotent.

Lors de l'autogamie, cet ancien macro-nucleus a disparu. L'ancien micro-nucleus a subi une méiose, qui a ségrégé au hasard les gènes mutés par l'irradiation. La fusion, dans chaque cellule, de deux pronucléi identiques a produit uniquement des homozygotes. On voit alors apparaître diverses aberrations, dans des proportions variables selon le degré d'efficacité de l'irradiation et selon le hasard de la ségrégation méiotique.

Dans deux lignées on observe l'atrophie du pharynx d'une manière très uniforme, sans toutefois que tous les individus en soient atteints. La fréquence des lignées qui présentent cette anomalie (2 sur 50) et le nombre de cellules atteintes dans chaque lignée indiquent qu'un grand nombre de gènes doit être impliqué dans la stomatogenèse. L'absence ou une erreur d'un ou de plusieurs de ces gènes semble inhiber une partie définie de la morphogenèse, selon un processus de tout ou rien. Les rares cellules normales sont celles qui à la méiose ont reçu tous les gènes nécessaires.

Sans approfondir cet aspect génétique de l'atrophie du pharynx, nous pouvons affirmer que nous sommes en présence d'une altération morphologique subséquente à une altération du génome. Il paraît donc évident que l'information morphogénétique est donnée par les gènes.

---

## Planche I.

### Fig. 1-3.

Pharynx d'une Paramécie normale. 1: Plan focal supérieur. Paroi droite du vestibule (Vd), se terminant à la membrane endorale (ME). Les cinétosomes en désordre près de la membrane endorale représentent le début d'un champ anarchique (CA). 2: Plan focal médian montrant le quadrulus (Q) sur la paroi dorsale et dans le fond du pharynx. 3: Plan focal profond. On voit la paroi gauche du vestibule (Vg), les deux penniculi (P) et une partie du quadrulus.

### Fig. 4-6.

Trois exemples de pharynx atrophiés. Quadrulus et penniculi sont désorganisés, la membrane endorale est absente, le pharynx ne s'ouvre pas à l'intérieur de la cellule. Les six figures sont à la même échelle.

Cette conclusion est en opposition avec celle que Sonneborn et Dippell (1960, 1961) et Sonneborn (1963) tirent de leurs expériences avec les « doublets ». Les doublets sont des cellules qui possèdent deux pharynx, deux cytoproctes, quatre vacuoles pulsatiles, etc. Ils sont obtenus par une opération mécanique qui touche uniquement les structures corticales. On a donc des lignées génétiquement identiques, mais dont le cortex est soit double, soit simple. Des croisements ne parviennent pas à modifier l'état double ou l'état simple. L'état du cortex serait donc déterminé par le cortex préexistant, indépendamment du génome.

En réalité les résultats des deux expériences ne s'opposent pas, mais se complètent, si l'on admet que le rôle du cortex est localisateur et quantitatif, alors que celui des gènes est à proprement parler morphogénétique, qualitatif. Dans le cortex se trouve la possibilité pour les éléments structuraux de se grouper en un champ anarchique. En absence de la zone comprise entre les cinéties de la paroi vestibulaire droite et la membrane endorale, zone probablement de constitution particulière et unique, aucun champ anarchique ne peut se constituer, donc aucun pharynx ne peut se développer. De même, si cette zone est déjà occupée par un champ anarchique, aucun autre ne pourra s'y former. Au contraire, en présence de deux de ces zones, deux pharynx se développent. En ce sens, le cortex joue bien un rôle essentiel dans la formation du nouveau cortex.

Mais par ailleurs, si l'information génique qui dirige la morphogenèse du pharynx fait défaut, un pharynx, même normal et complet, est incapable d'en former un nouveau, comprenant à son tour une zone destinée à un nouveau champ anarchique. C'est ce que prouve l'apparition, lors de l'autogamie, d'une aberration de la stomatogenèse dans des cellules à cortex normal.

Cette conception conduit à mettre en doute tout pouvoir morphogénétique ou simplement autoreproducteur des structures corticales et l'idée d'autonomie génétique qui s'y rattache. La constance même de ces structures n'est d'ailleurs pas prouvée, et une étude en cours indique que des « mutants corticaux » retournent peu à peu à leur type d'origine.

L'hypothèse de la néoformation des composantes cellulaires corticales par une épigenèse dirigée par les gènes semble donc trouver dans les résultats présentés ici un nouvel appui.